

UNIVERSITÉ DE GENÈVE
Faculté de Médecine

Professeur J. Berney
Département de Neurologie

UNIVERSITÉ DE FRIBOURG
Faculté des Sciences
Professeur J. Schowing
Département d'Embryologie
et Tératologie expérimentales

ÉTUDE MACROSCOPIQUE ET HISTOLOGIQUE DES EFFETS DE L'ACTINOMYCINE D SUR L'ENCÉPHALE EMBRYONNAIRE DU POULET

SON INFLUENCE SUR LE DÉVELOPPEMENT CÉPHALIQUE

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE L'UNIVERSITÉ DE GENÈVE
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE DENTAIRE

PAR

Christian LEIBZIG
d'Estavayer-le-Lac

THÈSE N° 354

FRIBOURG
Imprimerie Mauron + Tinguely SA
1979



ÉTUDE MACROSCOPIQUE ET HISTOLOGIQUE
DES EFFETS DE L'ACTINOMYCINE D
SUR L'ENCÉPHALE EMBRYONNAIRE
DU POULET

SON INFLUENCE SUR
LE DÉVELOPPEMENT CÉPHALIQUE

THÈSE

PRÉSENTÉE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE L'UNIVERSITÉ DE GENÈVE
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE DENTAIRE

PAR

Christian LEIBZIG
d'Estavayer-le-Lac



La Faculté de Médecine, sur le préavis de Monsieur le professeur Jean Berney, Dpt. de Neurologie et du prof. Jean Schowing, Dépt. d'embryologie et tératologie expérimentales de la Faculté des Sciences de l'Université de Fribourg, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

GENÈVE, le 24 juillet 1979.

Thèse N°

354

Le Doyen :

André Cruchaud

*Nous prions les professeurs
J. Berney et J. Schowing,
qui nous ont fait l'honneur
de présider cette thèse,
de croire en nos sentiments
de grande reconnaissance.*

A ma femme

A mes parents

PLAN

INTRODUCTION

MATERIEL ET METHODE

RESULTATS

1. observations macroscopiques
2. examen histologique

DISCUSSION

BIBLIOGRAPHIE

L'application d'agents pharmacologiques à des embryons, ou à des tissus ou organes embryonnaires à un stade déterminé de leur développement est un procédé largement utilisé en tératologie expérimentale.

Selon le cas, il permet de vérifier le degré d'embryotoxicité de telle ou telle substance, de tirer des conclusions sur les mécanismes morphogénétiques au niveau de l'organe lésé, d'établir le stade de sensibilité critique d'un organisme à une agression chimique déterminée, ou encore, d'interrompre le développement d'un organe afin de déterminer son rôle sur celui des organes voisins. Le type et le degré des anomalies obtenues après un traitement pharmacologique dépendent de plusieurs facteurs qu'il s'agit de contrôler expérimentalement, à savoir: le moment d'application (stade de développement de l'embryon) de l'agent tératogène, la concentration de ce dernier, la durée de son application et l'âge de l'embryon au moment de l'observation finale. Généralement, on observe que l'effet tératogène est d'autant plus important que l'application de l'agent pharmacologique a été plus précoce, et qu'il est proportionnel à la dose utilisée, pour autant que celle-ci soit inférieure au seuil de léthalité.

L'actinomycine D, outre son emploi comme antibiotique, est utilisée comme antiméiotique, et reconnue comme inhibitrice de la synthèse d'ARNm (Reich et al., 1962; Goldberg et Reich, 1964). Elle

constitue également un agent tératogène puissant (Pierro, 1961a, b; Flickinger, 1963; Klein et Pierro, 1963; Heilporn-Pohl, 1964; Wolowski et al., 1964; Pierro et Coghill, 1968; Noto et Shiotsuki, 1973; Bride, 1974, 1975, 1976; Bride et Gomot, 1974; Diethelm et Schowing, 1973, 1974). Il semble que l'encéphale soit particulièrement touché, à tel point que l'application d'actinomycine D à doses suffisamment fortes, présente le même effet sur le développement des os du crâne induits par l'encéphale, que des interventions microchirurgicales sur ce dernier (Schowing, 1968a, b, c; Diethelm et Schowing, 1974b).

L'actinomycine D pourrait donc, tout en entravant le développement de l'encéphale, exercer une inhibition de l'induction neurale de la voûte crânienne, ou, par diffusion dans le mésenchyme qui en constitue l'ébauche, en compromettre l'évolution normale.

Sur la base de ces hypothèses, nous avons entrepris un travail dont les buts sont les suivants:

- déterminer macroscopiquement l'effet de l'actinomycine D utilisée à fortes doses (jusqu'à 400 ug/ml) sur le développement céphalique de l'embryon de poulet;
- établir les causes possibles des malformations de la tête;
- discuter l'effet inhibiteur possible de l'actinomycine D dans les phénomènes d'induction du squelette crânien par l'encéphale;
- établir une corrélation entre l'amplitude de l'effet tératogène de l'actinomycine D et la dose appliquée à l'embryon.

Nos expériences ont été effectuées sur des embryons de poulet de race Hubbard entre 36 et 40 heures d'incubation (8 - 18 somites). Après un séjour d'environ une heure à température ambiante, afin de ralentir la circulation vitelline par abaissement de la température, l'oeuf est ouvert.

Deux incisions longitudinales sont pratiquées de part et d'autre de l'encéphale, de telle sorte que les vésicules optiques en sont séparées des deux côtés. Une incision transversale au niveau du premier somite permet de soulever la partie céphalique du tube nerveux et de l'extraire en progressant vers l'avant. Dans tous les cas, une étroite bande ectodermique dorsale est enlevée avec le tronçon céphalique, de même qu'une partie de la chorde. (Fig. 1).

Ces interventions sont pratiquées au moyen de microscalpels façonnés à la fraise diamantée à partir d'épingles en acier inoxydable et affûtés sur pierre d'Arkansas.

L'encéphale privé de ses vésicules optiques est ensuite traité à température ambiante durant 5 minutes par une solution d'actinomycine D dans du liquide de Tyrode (concentrations de 1.25, 2.5, 5, 10, 50, 100, 200 ou 400 ug/ml, rincé deux fois dans du liquide de Tyrode pur et remis en place dans la tête de l'embryon.

Les témoins subissent la même opération, mais le traitement se borne alors à un séjour de même durée de l'encéphale dans du liquide physiologique pur.

L'oeuf refermé au moyen d'une bande adhésive transparente est replacé en incubateur pour une période de huit jours au terme de laquelle l'embryon est prélevé et fixé dans du liquide de Zenker pendant 12 heures. Il est examiné et photographié, puis inclus dans la paraffine et débité en coupes transversales de $7\text{ }\mu$ d'épaisseur colorées au trichrome en un temps de Gabe et Martoja - Pierson.

Certaines parties de coupes sont dessinées à la chambre claire sur des feuilles plastiques qui, par juxtaposition, permettent une reconstruction tridimensionnelle agrandie de la tête embryonnaire. L'écartement entre les feuilles correspond à 24 coupes, soit $168\text{ }\mu$. Ces reconstructions permettent une interprétation spatiale des modifications observées en histologie. (Fig. 2).

Fig. 1 Schéma des opérations (longueur du territoire encéphalique excisé: 1 mm; longueur totale de l'embryon: 2,6 mm).

Fig. 2 Montage stéréoscopique pour l'interprétation dans l'espace de coupes sériées.

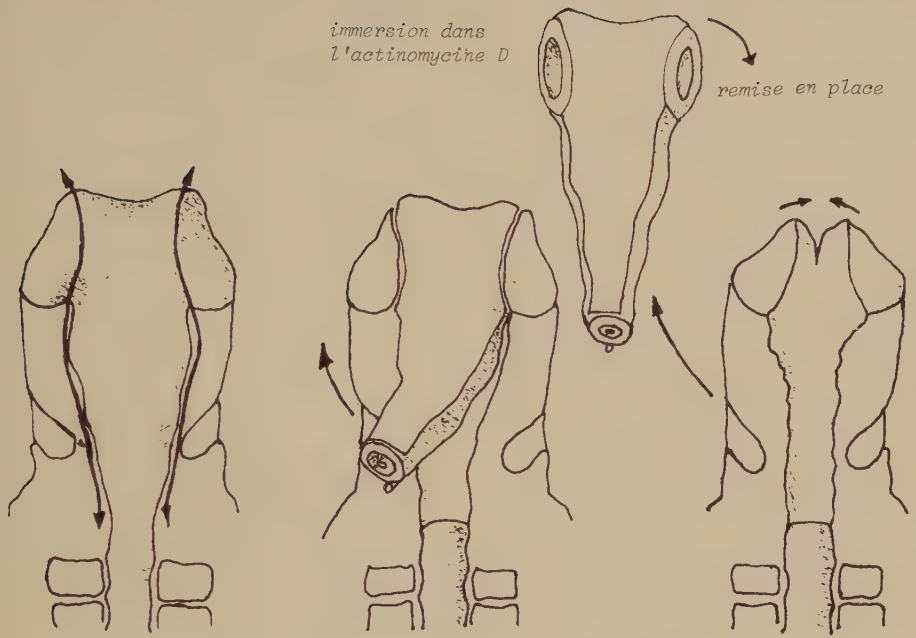


Fig. 1

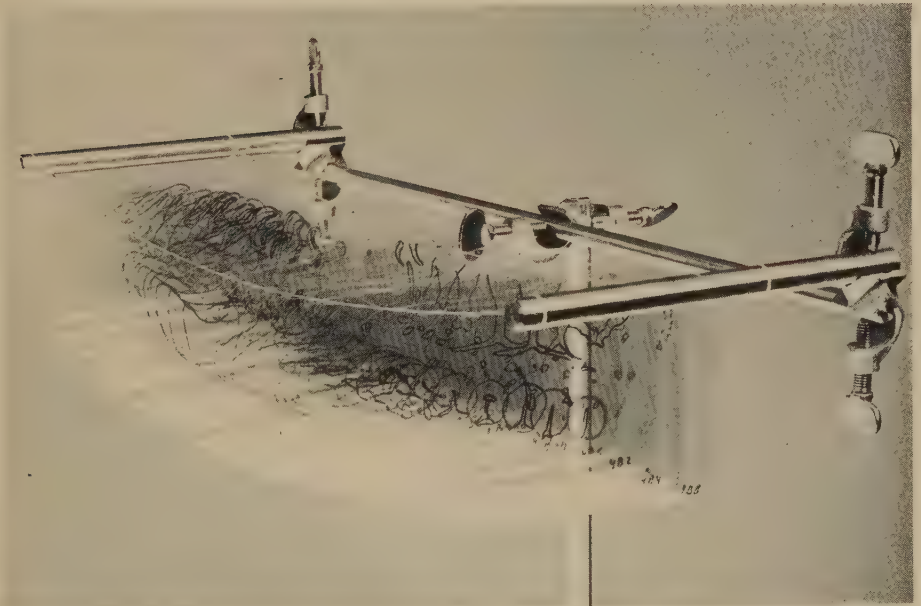


Fig. 2

1. Mortalité

Si l'on compare l'ensemble des embryons traités par l'actinomycine D et des embryons témoins, on peut constater chez les premiers une mortalité (71.9%) significativement plus élevée que chez les seconds (32.5%). C'est ce que montre le tableau I.

Embryons	survivants	%	morts	%	total
traités	36	29,1	92	71,9	128
témoins	27	67,5	13	32,5	40
total	63		105		168

Tableau I

Fréquences de mortalité et de survie chez les embryons traités à l'actinomycine D et les embryons témoins.

$$\chi^2 = 18,5; p < 0,001$$

Le nombre des embryons traités survivants ainsi que leur répartition dans les différentes séries expérimentales sont indiqués dans le tableau II. On constate que les pourcentages des survivants y sont extrêmement variables, il n'est donc pas possible de relier le taux de survie à la dose d'actinomycine D appliquée aux embryons.

Concentration en actinomycine D $\mu\text{g} / \text{ml}$	Embryons traités	Embryons survivants	Survie %
1,25	16	5	68,75
2,5	13	5	38,5
5	16	2	12,5
10	10	4	40
50	21	4	19
100	18	5	27,8
200	18	4	22,2
400	16	7	42,75
Total:	168	63	37,5

Tableau II

2. Types d'anomalies rencontrées

L'ensemble des embryons a été observé après 10 jours d'incubation. Les malformations céphaliques rencontrées sont d'autant plus importantes que la dose d'actinomycine D appliquée aux embryons est plus forte.

Les embryons témoins, opérés sans traitement à l'actinomycine, se reconstituent et évoluent normalement (Fig. 3). Leurs caractéristiques ne diffèrent pas, ou très peu, de celles des embryons normaux.

Les embryons ayant subi un traitement par une solution d'actinomycine D à 5 ug / ml présentent des malformations peu importantes. Elles se traduisent par une légère réduction des globes oculaires, pouvant être accompagnée par des absences de soudure des bourgeons faciaux (Fig. 4). Toutefois, cette dernière caractéristique n'est pas constante. Nous avons appelé ces embryons "subnormaux".

Pour une concentration d'actinomycine D de 10 ug / ml, la microphthalmie devient une règle générale. Par ailleurs, le bec supérieur de l'embryon est notablement réduit. La forme de la tête peut cependant conserver sa symétrie (Fig. 5).

Au delà de cette concentration, la réduction des différents constituants céphaliques s'accroît. Ainsi, tout embryon traité par une solution concentrée à 100 ug / ml est microphthalmie. L'encéphale revêt un aspect irrégulier lui ôtant toute symétrie. De ce fait, les yeux sont disposés anormalement, tandis que le bec supérieur est réduit ou disparaît (Fig. 6). Les mêmes caractéristiques se retrouvent chez des embryons traités à concentration encore plus forte, mais l'anophthalmie remplace la microphthalmie. En outre, dans les cas extrêmes, la face elle-même disparaît (Fig. 7; Fig. 8).

L'ensemble de ces résultats morphologiques est résumé dans le tableau III. Il donne les fréquences absolues des embryons présentant les types d'anomalies indiqués en fonction de la concentration de tératogène utilisée. Les traits de liaison verticaux indiquent que les différentes anomalies qu'ils recouvrent, affectent conjointement les mêmes embryons.

L'examen du tableau III permet de constater que les modifications principales apportées par le traitement pharmacologique vont dans le sens d'une régression oculaire allant jusqu'à l'anophtalmie. Ceci confirme les résultats de Diethelm et Schowing (1973, 1974). Des altérations affectant le bec supérieur y sont associées, ce dernier pouvant disparaître à la limite. Bien que l'on remarque souvent un certain rapprochement des yeux, on n'observe jamais de véritable synophtalme

Fig. 3 Tête d'embryon témoin de 10 jours (encéphale immergé durant 5 minutes dans du liquide de Tyrode)

Fig. 4 Tête d'embryon "subnormal" de 10 jours dont l'encéphale a été traité par une solution de 5 ug / ml d'actinomycine D dans du liquide de Tyrode. Remarquer la microophtalmie et la fente oeil-bouche.

Fig. 5 Tête d'embryon microophtalme de 10 jours. (Encéphale traité par une solution de 10 ug / ml d'actinomycine D). Remarquer la symétrie de la tête. Le bec est réduit.

Fig. 6 Tête d'embryon microophtalme de 10 jours. (Encéphale traité par une solution de 100 ug / ml d'actinomycine D) Le bec supérieur est extrêmement réduit, La position des yeux est asymétrique.

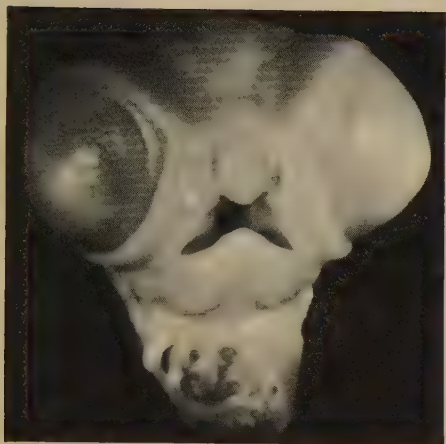


Fig. 3

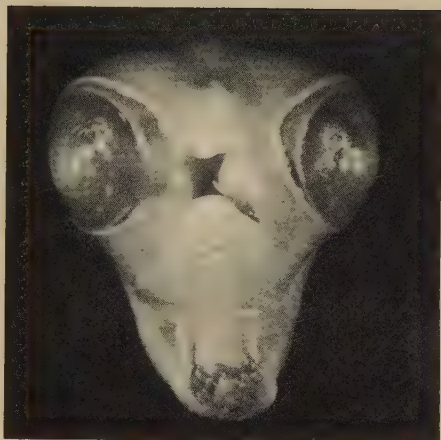


Fig. 4

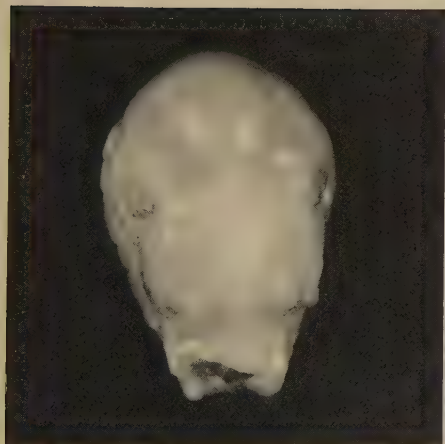


Fig. 5



Fig. 6

Fig. 7 Tête d'embryon anophtalme de 10 jours (encéphale traité par une solution de 200 ug / ml d'actinomycine D). Le bec supérieur est extrêmement atrophié.

Fig. 8 Embryon anophtalme de 10 jours à tête rudimentaire (encéphale traité par une solution de 400 ug / ml d'actinomycine D). Absence de face.

Fig. 9 Coupe transversale de la tête au niveau du myélencéphale (Embryon n° 143; dose du traitement à l'actinomycine D: 100 ug/ Ib: canaux semicirculaires de l'oreille moyenne
my: myélencéphale
ne: ébauches cartilagineuses du neurocrâne
4 : IVe ventricule. x39

Fig.10 Coupe transversale de la tête (même individu que Fig. 9) au niveau du mésencéphale.

cr: cristallin

lo: lobes optiques du mésencéphale

p : paupière de l'oeil droit

vod:vésicule optique droite

flèche: centre d'ossification du crâne (la substance osseuse a été dissoute par le fixateur). x39



Fig. 7



Fig. 8

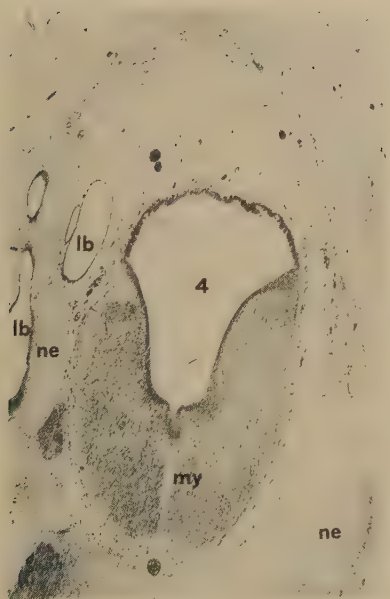


Fig. 9

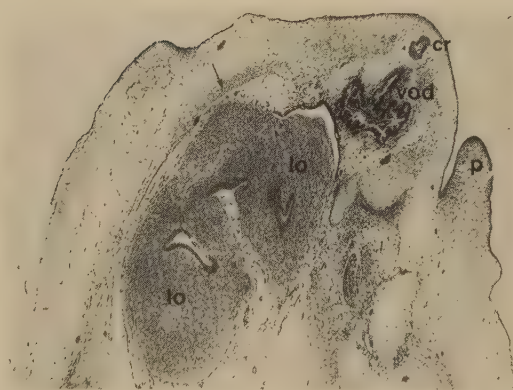


Fig. 10

ou cyclope .. Les embryons les plus atteints présentent une désorganisation céphalique considérable, avec absence de bec, puis de face (Fig. 7 et 8).

Si l'on reprend ces données en mettant l'accent sur les modifications des yeux, et en attribuant aux différentes classes d'anomalies des numéros d'ordre selon une échelle d'importance croissante, on obtient le tableau IV où:

- Y représente le numéro d'ordre correspondant à chaque degré de malformation;

- Y_m est l'indice d'importance égal à la valeur de Y pour chaque concentration, compte tenu des fréquences observées dans les différentes classes;

- X indique la concentration utilisée en $\mu\text{g} / \text{ml}$.

Les variables associées X et Y_m présentant une corrélation significative (Spearman rank correlation test, $r_s = 0.95$; $p = 0.01$), il apparaît que l'amplitude des malformations oculaires est fonction de la dose d'actinomycine D appliquée à l'encéphale en début d'expérience.

Types de malformations	concentrations en $\mu\text{g} / \text{ml}$							
	1.25	2.5	5	10	50	100	200	400
normal	3	4						
subnormal	2	1	2					
réduction du bec supérieur				3	4			
bec supérieur très atrophié				1		3	1	
microphthalmie				3	4	3	2	
anophtalmie				1			1	7
tête rudimentaire						2	1	7
total des survivants	5	5	2	4	4	5	4	7

Tableau III

Aspect céphalique externe des embryons
survivants ayant été traités à l'actinomycine D.

X \ Y	Y	normal 1	subnormal 2	microphthalmie 3	anophtalmie 4	Ym
	1.25	3	2			1.4
	2.5	4	1			1.2
	5		2			2
	10			3	1	3.25
	50			4		3
	100			3	2	3.4
	200			2	2	3.5
	400				7	4

Tableau IV

Degrés de malformation

2. Examen histologique

L'étude histologique des embryons témoins n'a rien révélé de particulier. L'architecture de leur tête est identique à celle d'embryons normaux, à quelques rares exceptions près. Chez ces dernières, les modifications décelables sont dues selon toute vraisemblance à une mauvaise remise en place de l'encéphale excisé.

Par contre, l'examen des coupes histologiques a mis en évidence des modifications structurales consécutives au traitement expérimental. Deux embryons montrent des malformations particulièrement significatives. Ce sont le n^o 143 (Fig. 6), traité par une solution de 100 ug/ml d'actinomycine D, et le n^o 134 (Fig. 14) traité par une solution de 200 ug/ml d'actinomycine D.

N^o 143 (Fig. 6): La moelle épinière est normale et le myélencéphale est bien développé ainsi que les ébauches de l'appareil acoustico-vestibulaire (Fig. 9). Au niveau de la flexure céphalique, l'encéphale présente un étranglement très marqué. Sa partie antérieure est extrêmement réduite; hormis le mésencéphale, qui est atrophié (Fig. 10 et 11), il ne subsiste qu'une masse neurale compacte, dépourvue de ventricules (Fig. 12). Les vésicules optiques, atrophiées, restent au contact de la masse nerveuse correspondant au diencéphale (Fig. 12). Elles sont très plissées et contournées, ne s'invaquent pas en cupules optiques et sont dépourvues de nerf optique (Fig. 10, 11, 12, 13). L'oeil droit, contrairement au gauche, possède une ébauche de cristallin (Fig. 10). L'oeil gauche

a basculé latéro-ventralement, de sorte que les yeux sont disposés de manière asymétrique sur la face. Les cartilages de la région orbitaire sont présents, leur déformation accompagne les altérations encéphaliques. Le mésenchyme occupant la partie frontale de la voûte crânienne est diffus et montre très peu de centres d'ossification. Ceux-ci apparaissent cependant au-dessus du myélencéphale, c'est-à-dire dans la région pariéto-occipitale.

N° 134 (Fig. 14): La moelle épinière est bien différenciée et d'aspect normal ainsi que le myélencéphale. Ce dernier est disposé au niveau d'une flexure céphalique exagérément marquée, cet emplacement devant être normalement occupé par le mésencéphale. La partie antérieure de l'encéphale est réduite à une masse pleine, allongée, entourée d'ébauches cartilagineuses épaisses (Fig. 15). Tout au plus peut-on distinguer, antérieurement deux minuscules vestiges de ventricules dont on ne peut dire s'ils représentent les ébauches avortées des hémisphères cérébraux ou des lobes

Fig. 11 Coupe voisine de la précédente. Légende: comme précédemment.

A remarquer: l'absence de nerf optique. x39

Fig. 12 Coupe transversale de la tête (même individu que précédemment) au niveau du prosencéphale.

pr: prosencéphale (ici réduit à une masse compacte et amorphe)
vog: vésicule optique gauche. x39

Fig. 13 Coupe légèrement plus antérieure que la précédente, au niveau de l'extrémité antérieure de l'encéphale.

Légende: comme précédemment. x40



Fig. 11

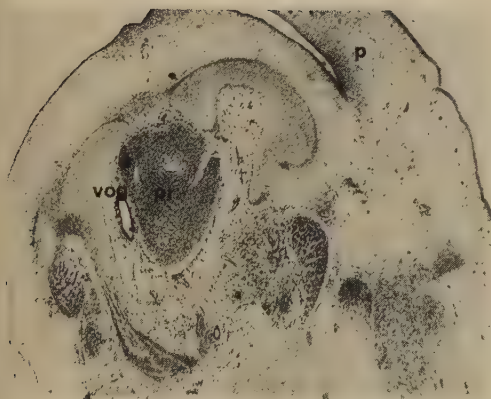


Fig. 12

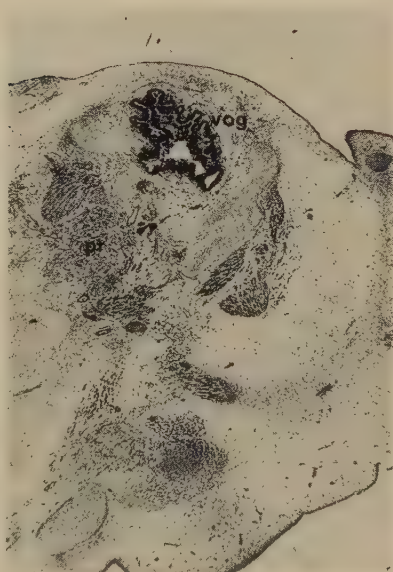


Fig. 13

optiques. Les vésicules optiques, atrophiées et extrêmement plissées, sont dépourvues de nerfs optiques qui les mettraient en communication avec l'encéphale. Il n'y a pas de cristallin. A propos des ébauches squelettiques membraneuses, les mêmes remarques sont à faire que pour l'embryon n^o 143.

Les exemplaires décrits ci-dessus sont les plus typiques. Ils ont été choisis en raison de leur similitude, et parce qu'ils représentent l'aboutissement des réductions obtenues.

L'étude histologique révèle une altération très marquée des squelettes crâniens, et complète ainsi ce que Diethelm et Schowing avaient constaté par coloration du squelette crânien "in toto" (1973). D'autre part, les yeux n'ont aucune relation avec l'encéphale, malgré leur proximité. Ils sont en outre très réduits. Cela suppose que l'actinomycine D accumulée dans l'encéphale diffuse dans les pédoncules optiques et inhibe le dé-

Fig. 14 Tête d'embryon microphthalmie (embryon n^o 134; encéphale traité par une solution de 200 ug / ml d'actinomycine D). Le bec supérieur est extrêmement réduit. x27

Fig. 15 Coupe transversale de la tête du même individu. La flexure céphalique est très accentuée. Le neurocrâne est bien développé.
ch: chorde

m : masse encéphalique antérieure

me: moelle épinière

Autres légendes: comme précédemment.



Fig. 14



Fig. 15

veloppement ultérieur des vésicules oculaires. Plus la concentration en est forte, plus cette action est marquée. Jusqu'à un certain seuil, situé au voisinage d'une concentration de 50 $\mu\text{g/ml}$, les vésicules optiques conservent une possibilité d'induction du cristallin. On trouvera alors des embryons possédant des yeux réduits, mais complets. Au delà, cette induction n'est plus possible. L'exemplaire des figures 6 et 10 présente une seule formation cristallinienne, c'est le seul cas relevé dans cette série expérimentale.

L'encéphale s'altère également en fonction de la concentration en actinomycine D. Il perd progressivement son aspect pour se réduire finalement à un simple prolongement dépourvu de cavités ventriculaires. Les yeux ne s'y raccordent pas.

Il est plus difficile de classer les altérations histologiques que les altérations purement morphologiques, compte tenu des variations individuelles que l'on peut rencontrer. On peut cependant dresser un tableau regroupant les modifications principales.

Modifications principales	concentrations en ug / ml							
	1.25	2.5	5	10	50	100	200	400
encéphale normal	x	x						
encéphale réduit			x	x	x			
prolongement encé- phalique atypique						x	x	x
ventricules normaux	x	x						
ventricules réduits			x	x	x	x		
ventricules absents						x	x	x
voûte crânienne normale	x	x						
voûte crânienne réduite			x	x	x			
voûte crânienne absente						x	x	x
yeux normaux	x							
yeux réduits		x	x					
microphthalmie avec cristallin				x	x	x		
microphthalmie sans cristallin						x	x	
anophtalmie								x

Tableau V

On sait qu'une hémorragie est un important facteur de mortalité lors d'expériences microchirurgicales chez l'Oiseau (Schowing, 1965). Grâce au refroidissement préalable des embryons, la mortalité plus forte ne peut être attribuée à des troubles circulatoires, pas plus que les anomalies obtenues, étant donné l'absence de tels effets chez les témoins.

Ces effets peuvent être classés en deux catégories principales:

- a) effets directs sur la morphogenèse encéphalique
- b) effets indirects concernant le pouvoir inducteur de l'encéphale sur l'ostéogenèse crânienne.

Les premiers sont évidents et affectent la partie antérieure de l'encéphale, laissant intact le myélencéphale, du moins pour les doses les plus fortes. Ce sont: une tendance à l'effacement de la segmentation primitive pour ne laisser subsister qu'une masse cylindrique compacte dépourvue de ventricules et de plus la perte de contact avec les vésicules optiques qui régressent, déterminant ainsi une microphthalmie dont l'importance semble liée à la dose d'antibiotique utilisée. Les aberrations observées au niveau des vésicules optiques peuvent être dues, soit à leur séparation définitive de l'encéphale par suite du traitement appliqué à ce dernier, soit par une action directe de l'actinomycine D qui aurait pu diffuser à leur niveau à partir du tube nerveux; les vésicules optiques restent cependant capables dans quelques cas d'induire un cristallin à partir de la placode optique (Fig. 10).

Par opposition aux résultats d'expériences similaires où étaient appliquées des doses moins élevées d'actinomycine D (de 0.66 ug/ml à 50 ug/ml) mais avec une immersion plus longue de l'encéphale (15 minutes; Diethelm et Schowing, 1974), aucun embryon synophtalme ou cyclope n'a été obtenu au cours de nos propres expériences. Un certain rapprochement des yeux a été constaté dans quelques cas, associé à une réduction du bec supérieur attribuable à une inhibition du bourgeon frontal. Ceci s'explique par le fait qu'une synophtalmie ou une cyclopie ne peut apparaître que si le développement initial des vésicules optiques est normal, du moins en taille, ce qui leur permet de fusionner plus ou moins complètement. Or, dans le cas présent, la microphthalmie, liée aux motifs déjà cités, supprime les conditions favorisant la fusion oculaire.

La perte du système ventriculaire diminue l'état de tension du tissu nerveux et le maintien de la forme. Associée au mouvement de bascule de l'embryon sur le côté gauche, elle peut en expliquer l'asymétrie, qui se communique aux structures avoisinantes telles que les vésicules optiques ou les ébauches du neurocrâne (Fig. 9 et 12).

On sait que le moment d'application d'une substance tératogène a une grande influence sur l'étendue des malformations ultérieures et que, plus l'intervention est précoce, plus la zone atteinte est importante (Wilson, 1973). Si l'on considère que la seule zone épargnée du point de vue morphologique, lors de l'application de fortes doses d'actinomycine D (100, 200, 400 ug/ml), est le myélencéphale, il est très vraisemblable que la zone de la plus grande sensibilité à l'actinomycine D soit de plus en plus restreinte vers la partie antérieure de l'encéphale au cours de l'organogenèse.

En ce qui concerne les effets indirects possibles de cet antibiotique, il est important de se rappeler que la voûte crânienne, contrairement au neurocrâne enchondral, est formée par ossification directe du mésenchyme céphalique.

Lors de l'excision de l'encéphale, une bande ectodermique dorsale à laquelle du mésenchyme peut se joindre a été prélevée conjointement et exposée de la même façon à l'agent tératogène.

Pour résumer les ébauches cartilagineuses du neurocrâne sont en place avec tout au plus des altérations morphologiques aisément explicables par les déformations locales de l'encéphale. Quant à la voûte crânienne, rares sont les endroits où une concentration mésenchymateuse semble indiquer un futur centre d'ossification. D'une manière générale, le mésenchyme est présent, mais à l'état diffus.

Ces faits nous amènent à formuler l'hypothèse suivante: en envisageant l'existence de deux systèmes inducteurs du crâne, celui émanant de la chorde qui régit la formation du neurocrâne enchondral, et celui qui a son origine dans l'encéphale et détermine l'apparition des os dermiques de la voûte crânienne, l'actinomycine D constituerait un inhibiteur spécifique de ce dernier, probablement par blocage de synthèse du ou des principe(s) actif(s) dans l'encéphale étant donné son rôle d'inhibiteur du RNAm dans le processus de transcription du DNA (Reich, Goldberg et Rabinowitz, 1962; Goldberg et Reich, 1964).

Par ailleurs, considérant le fait qu'une partie au moins du mésen-

chyme précurseur de la voûte crânienne a été soumis à l'actinomycine D, il n'est à priori pas à exclure que celle-ci puisse entraver de manière directe le développement ultérieur de ce mésenchyme.

De plus, le mésenchyme qui constitue l'ébauche précartilagineuse du neurocrâne n'a pas été soumis à l'influence directe de l'actinomycine D. Toutefois cette partie du neurocrâne peut être atrophiée. Ceci pourrait être dû au fait que le fragment de chorde que nous avons prélevé avec l'encéphale au moment du traitement a perdu son pouvoir inducteur. Les cartilages réduits que nous avons observés résulteraient alors soit d'un phénomène inducteur émanant de la partie intacte de la chorde, soit de la présence d'éléments ayant échappé à l'action de l'actinomycine D, par exemple des cellules des crêtes neurales.

Comme on voit, le problème est loin d'être résolu et il ne semble guère devoir l'être avant que la notion d'inducteur soit précisée de manière non équivoque, le cas échéant, au niveau moléculaire.

- DIETHELM F. et SCHOWING J.- Action directe de l'actinomycine D sur l'encéphale embryonnaire du poulet.Obtention expérimentale de la cyclopie.W.Roux'Arch., 1974, 175, 2, 163-172.
- DIETHELM F. et SCHOWING J.- Action de l'actinomycine D sur l'encéphale embryonnaire du poulet.Ses conséquences sur le développement céphalique.Bull.Assoc. Anat.,1973, 57, 159, 845-852.
- BRIDE J. et GOMOT L.- Influence en culture in vitro de l'actinomycine D sur la morphogenèse de l'ébauche de la glande uropygienne et sur la répartition des ARN.C.R.Acad.Sc.Paris,1974, 278, 947-950.
- BRIDE J.- Etude ultrastructurale des effets de l'actinomycine D sur la différenciation de l'ébauche de la glande uropygienne en culture in vitro.C.R.Acad. Sc.,Paris,1974, 278, 1107-1110.
- BRIDE J.- Modifications des premiers stades de différenciation in vitro de la glande uropygienne sous l'effet de l'actinomycine D.Arch.Biol.Bruxelles,1975, 86, 275-298.
- BRIDE M.- Autodifférenciation du mésoderme précardiaque d'Amphibiens Anoures en culture in vitro.C.R.Acad.Sc.Paris,1974,278, 777-780.
- BRIDE M.- Influence de l'actinomycine D sur la différenciation cardiaque du Xénope en culture organotypique.C.R.Acad.Sc.Paris,1976, 283, 259-262.
- FLICKINGER R.A.- Actinomycin D effects in frog embryos:evidence for sequential synthesis of DNA-dependent RNA. Science,1963, 141, 1063-4.
- HEILPORN-POHL V.- Effets de l'actinomycine D sur la morphogenèse et le métabolisme des acides nucléiques chez l'embryon de poulet. J.Embryol.exp.Morph.,1964, 12, 439-446.
- GOLDBERG I.H. and REICH E.- Actinomycin inhibition of RNA synthesis directed by DNA. Fed.Proc.,1964, 23, 958-964.
- KIENY M. et FOUVET B.- Innervation et morphogenèse de la patte chez l'embryon de poulet.II.-Anomalies consécutives à l'excision d'un tronçon de tube neural à deux jours d'incubation.Arch.Anat.micr.Morph.exp.,1974, 63, 281-298.

- KLEIN N.W. and PIERRO L.J.-Actinomycin D: specific inhibitory effects on the explanted chick embryo.Science; 1963, 142, 967-969.
- LANDAUER W. et CLARK E.M.- The interaction in teratogenic activity of the two niacin analogs 3-acetylpyridine and 6-aminonicotinamide. J.Exp.Zool.,1962, 151, 253-258.
- MALPOIX P. et LIMBOSCH S.- Influence de la puromycine sur la morphogenèse et la synthèse des macromolécules chez l'embryon de poulet. J.Embryol.exp.Morph., 1966, 16, 439-453.
- NOTO T. and SHIOTSUKI M.L.N.- The effects of embryonic heart RNA and actinomycin D both on the isolated tissue-pieces of the chick blastoderm and on the isolated primitive tubular heart of the early chick embryo.Development,Growth and Differentiation,1973, 15, 329-334.
- PIERRO L.J.- Teratogenic action of actinomycin D in the embryonic chick. J.Exp.Zool 1961a, 147, 203-210.
- _____.- Teratogenic action of actinomycin D in the embryonic chick. II Early development. J.Exp.Zool., 1961b, 148, 241-249.
- PIERRO L.J. and COGHILL J.E.- Interaction in teratogenesis:actinomycin D,puromycin and deoxyguanosine. Teratology, 1968, 1, 21-32.
- REICH E.,GOLDBERG I.H. and RABINOWITZ M.- Structure-activity correlation of actinomycins and their derivatives. Nature,Lond.,1962, 196, 743-748.
- SCHOWING J.- Influence inductrice de l'encéphale et de la chorde sur la morphogenèse du squelette crânien chez l'embryon de poulet. J.Embryol.exp.Morph.,1961, 9, 326-334.
- SCHOWING J.- Modalités d'obtention de monstres cyclopes par microchirurgie chez l'embryon de poulet. C.R.Acad.Sc.,1964, 259, 2020-2023.
- SCHOWING J.- Obtention expérimentale de cyclopes parfaits par microchirurgie chez l'embryon de poulet.Etude histologique. J.Embryol.exp. Morph.,1965, 14,255-263

- SCHOWING J.- Influence inductrice de l'encéphale embryonnaire sur le développement du crâne chez le poulet. I. Influence de l'excision des territoires nerveux antérieurs sur le développement crânien. J.Embryol.exp.Morph., 1968 a, 19, 9-22.
- SCHOWING J.- Influence inductrice de l'encéphale embryonnaire sur le développement du crâne chez le poulet. II. Influence de l'excision de la chorde et des territoires encéphaliques moyen et postérieur sur le développement crânien. J.Embryol.exp.Morph., 1968 b, 19, 23-32.
- SCHOWING J.- Mise en évidence du rôle inducteur de l'encéphale dans l'ostéogénèse du crâne embryonnaire du poulet. J.Embryol.exp.Morph., 1968 c, 19, 83-93.
- SCHOWING J.- Rôle morphogène de l'encéphale embryonnaire dans l'organogénèse du crâne chez l'oiseau. Ann.Biol., 1974, 13, 69-76.
- SCHOWING J. et CELERS J.- Troubles de croissance osseuse au cours de lésions du système nerveux chez l'embryon de poulet. C.R.Acad.Sc.Paris, 1965, 260, 5104-5107.
- SCHOWING J. et CELERS J.- Influence de l'innervation sur la croissance du membre chez l'embryon de poulet. Annales d'Embryologie et de Morphogénèse, 1968, 1, 73-81.
- WILSON J.G.- Present status of drugs as teratogens in man. Teratology, 1973, 7, 3-16.
- WOLFF E.- La destruction expérimentale, totale ou partielle, de l'encéphale et ses conséquences chez l'embryon de poulet. C.R.Soc.Biol., 1937, 127, 440-442.
- WOLKOWSKI R.M., PIERRO L.J. and KLEIN N.W.- Specific regional response of the chick embryo to chemical teratogens: actinomycin D and puromycin. Am.Zool., 1964, 4, 397-398.

